

**BINDUNG VON ANIONISCHEN PHARMAKA
AN MENSCHLICHE GEWEBE**

NIKOLAOS TOUROUTOGLOU

1987

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554816_0105

Aus dem Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Forth

BINDUNG VON ANIONISCHEN PHARMAKA
AN MENSCHLICHE GEWEBE

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Nikolaos Touroutoglou

aus

Thessaloniki Griechenland

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.H.Kurz

Mitberichterstatter: Prof.Dr.W.Forth

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19.03.1987

An meiner Schwester
Lena
in Dankbarkeit.

Herrn Prof. Dr. H. Kurz danke ich für die liebevolle Anwesenheit und Betreuung bei jedem Schritt, daß zu der Vollendung dieser Arbeit geführt hat.

Frau Dr. G. Schuhmann danke ich für die hilfreichen Anregungen bei der Durchführung und dem Zusammensreiben dieser Arbeit.

Frau V. Schwaiger, Herrn Dr. med. habil. B. Fichtl und Herrn Dr. K. Walter danke ich für die vielseitige und freundliche Unterstützung.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	SEITE
1. E i n l e i t u n g	1
2. M e t h o d i k	3
2.1. Substanzen und Nachweismethoden	3
2.2. Gewebe und Herstellung der Homogenate	7
2.3. Ultrafiltration	9
2.4. Dialyse	10
2.5. Berechnung der Bindung	10
2.5.1. Ultrafiltration radioaktiv markierter Pharmaka	10
2.5.2. Dialyse	12
3. E r g e b n i s s e	13
4. D i s k u s s i o n	17
4.1. Kritik der Methode	17
4.1.1. Ultrafiltration	17
4.1.2. Dialyse	18
4.1.3. Einfluß der Temperatur auf die Bindungswerte	19
4.2. Vergleich von Gewebebindung und Plasmabindung	19
4.3. Vergleich der Bindung beim Menschen mit der Bindung beim Kaninchen	24
4.4. Vergleich der Bindung an menschliche Organe mit der Bindung an menschlichen Skelettmuskel	25
5. Z u s a m m e n f a s s u n g	26
6. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s	27

1. EINLEITUNG

Pharmaka werden nicht nur an die Proteine des Plasmas sondern auch an Proteine und andere Makromoleküle der Gewebe gebunden. Für pharmakokinetische Modelle ist das Ausmaß dieser Bindung von großer Bedeutung, denn es bestimmt die Verteilung sowie die Geschwindigkeit der Ausscheidung eines Pharmakons im Organismus.

Die Bindung von Pharmaka an das Plasma von Mensch und Tier ist vielfach erforscht worden, z.B Fichtl 1983; Schuhmann 1985. Dabei deuten viele Ergebnisse darauf hin, daß die Plasmabindung der Gewebefindung gegenüber etwas überschätzt worden ist (Scholtan 1978; Kurz und Fichtl 1983).

Bei gleichem Ausmaß der Bindung muß man erwarten, daß die Gewebefindung wegen der im Vergleich zu Plasma größeren Gesamtmenge auch eine größere Bedeutung für das pharmakokinetische Verhalten der Pharmaka hat. Bedingt durch das große Volumen des Gewebraums (etwa 40 l im Gegensatz zu Plasma, etwa 3 l) und durch die große Menge an bindenden Strukturen (180g für Plasma gegenüber 20kg für Gewebe) befindet sich, bei gleich starker Bindung, die größte Menge eines verabreichten Pharmakons nach seiner Verteilung, im Gewebe (Pfeifer et al, 1984). Für die Gewebefindung gibt es von Tieren (Ratte, Hund, Kaninchen) einige Daten, vom Menschen allerdings nur wenige. So kennt man z.B. Werte der Bindung



von Pharmaka an das Muskelgewebe (Fichtl 1983). Dabei ist es auch gezeigt worden daß die in-vitro Bindung von Pharmaka an Geweben mit der in-vivo-Situation gut übereinstimmt (Fichtl 1983, Schuhmann 1985).

Ziel dieser Arbeit war deswegen, Bindungsdaten von Pharmaka an weitere menschliche Organe, nämlich Leber, Niere, Lunge, Herz und Hirn, zu ermitteln. Bei den Bindungsstudien wurden anionische Pharmaka verwendet die ein breites Spektrum physikalisch-chemischer Eigenschaften (Lipidlöslichkeit, Ionisationsgrad) umfassen.

2. METHODIK:

Ziel der Versuche war es den nicht an Gewebe gebundenen Anteil der jeweils untersuchten Substanz zu bestimmen und daraus den gebundenen Anteil zu berechnen. Zu diesem Zwecke gelten Ultrafiltration und die Gleichgewichtsdialyse als Standardverfahren und wurden bei dieser Arbeit angewendet, (Kurz und Fichtl 1983, Kurz, Trunk und Weitz 1977). Für jeden Bindungswert wurden unabhängig von der Bestimmungsmethode mindestens drei Versuche durchgeführt.

2.1. Substanzen und Nachweismethoden

Als Testsubstanzen wurden Warfarin, Phenytoin, Salicylsäure und Thiopental verwendet; (Tabelle IA und II geben Auskunft über die verwendeten Pharmaka). Mit den obengenannten Substanzen wurde folgendermaßen gearbeitet: Zu nicht radioaktiven Lösungen der ersten drei Substanzen wurden kleine Mengen radioaktiv markierter identischer Substanzen zugegeben, (Tab 1B). Die Bindung wurde durch Ultrafiltration und anschließende Flüssigkeitsszintillationszählung bestimmt. Für Thiopental stand uns keine radioaktiv markierte Substanz zur Verfügung. Deshalb wurde seine Konzentration in den Proben chromatographisch nach der HPLC-Methode bestimmt. Bei der Ultrafiltration von Thiopental ergaben sich Schwierigkeiten, weil dieses in sehr starkem Maße an die Filtermembran adsorbiert wurde. Die Bindung von Thiopental wurde des-

Tabelle Ia

Verwendete Substanzen

A. Nicht markierte Substanzen

Substanz	Herkunft	Molek. Masse (d)
Phenytoin	Nordmark- Werke	252.3
Natrium- Salicylat	Merck	160.1
Thiopental- Natrium	Byk-Gulden	264.3
Warfarin- Natrium	Richardson	308.3

Tabelle Ib

Verwendete SubstanzenB. Radioaktivmarkierte Substanzen

Substanz	Markierung	Spez. Aktiv mCi/mmol	Radiochem. Reinheit	Herkunft
Phenytoin	^{14}C	47.05	99 %	N.E.N.*
Salicylsäure (Reinsubstanz)	^{14}C	51.7	98 %	N.E.N.*
Warfarin (Reinsubstanz)	^{14}C	49.0	99 %	Amersham

*New England Nuclear

Tabelle 2

Physikalisch-chemische Eigenschaften
der untersuchten Pharmaka

Substanz	VK Oktanol/Puffer bei pH=7	pK _a	Ionisationsgrad in %, bei pH=7
Phenytoin	289	8.33	4.47
Natrium- Salicylat	0.02	3.0	99.9
Thiopental- Natrium	846	7.34	26.2
Warfarin- Natrium	28.8	5.0	99.0

halb durch Gleichgewichtsdialyse im Dianorm-Gerät bestimmt. Mit dieser Meßmethode waren die Ergebnisse gut reproduzierbar und ihre Bestimmung war problemlos.

2.2. Gewebe und Herstellung der Homogenate

Es wurden, menschliches Hirn-, Lungen-, Herz-, Leber- und Nierengewebe verwendet. Die benötigten Organproben stammten aus Sektionsmaterial von nach Möglichkeit gesunden und unbehandelten Personen und wurden in tiefgefrorenem Zustand (-20 Grad C) aufbewahrt. Von dem jeweils zu untersuchenden Organ wurde ein feines Homogenat hergestellt und anschließend dessen H^+ -Konzentration dem physiologischen, intrazellulären pH-Wert von 7.0 angepaßt. Gewebekomogenate die zu 100% Gewebe enthalten, sind sehr zähe, meistens nicht vollständig homogenisiert und für die Bestimmung der Bindung durch Dialyseverfahren ungeeignet. Aus diesen Gründen wurde mit verdünnten Homogenaten gearbeitet. Diese wurden folgenderweise hergestellt:

Das aufgetaute Gewebe wurde nach Abspülen mit isotoner Kochsalzlösung von nicht dem Organparenchym gehörenden Gewebestrukturen freipräpariert, (z.B. Kapseln, Sehnen, Bronchien, großen Gefäßen, Herzklappen). Auf das Vorhandensein makroskopischer Veränderungen des Gewebes (Ikterus bei der Leber, Nekrosen am Herzmuskel, hämorrhagische Bezirke an der Lunge) wurde geachtet.

Gewebe, das durch Veränderungen im Aussehen und durch den Geruch Zersetzungserscheinungen vermuten ließ, wurde verworfen. Das Gewebe wurde dann mit Hilfe einer Schere oder eines Skalpells grob zerkleinert und mit 0.8ml isotonem Phosphatpuffer ($\text{pH}=7.0$ aus $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, nach Rauen, 1956) pro Gramm Gewebe vermischt. Für das anschließende Homogenisieren wurden der "Tornado"-Homogenisator (Fa. Emmendinger Maschinenbau) oder das "Multi-mix" Hausgehaltsggerät (Fa. Braun) verwendet. Um den trotz Pufferzugabe immer noch bei 6.8 liegenden Homogenat pH -Wert auf 7.0 zu bringen, wurde tropfenweise Na_2CO_3 -Lösung (1.9Mol/l) zugegeben. Schließlich wurde die Pharmakonlösung in einer solchen Menge und Konzentration dazugegeben daß einerseits die Endkonzentration des Gewebes im Homogenat 50g/100g Homogenat, andererseits die endgültige Pharmakonkonzentration im Homogenat 10^{-5} Mol/l (für einige Versuche 10^{-4}) betrug. Dies entspricht in etwa den therapeutischen Konzentrationen bei der Anwendung am Menschen. (Goodman and Gilman, 1978). Zur Bestimmung des Wassergehaltes der hergestellten Homogenate wurden drei kleine Homogenatproben bis zur Gewichtskonstanz (5 h, bei 110 Grad C) getrocknet.

2.3. Ultrafiltration

Als Filtermembran für die Ultrafiltration wurden Dialyseschl

schläuche der Fa. Serva, Visking (Typ 20/32) verwendet. In diese Schläuche wurden jeweils 10 ml folgender Proben eingebracht:

- (1).3x Puffer als Leerwert
- (2).3x Puffer/Pharmakon Lösung (Pharm. Konz.= 2×10^{-6} Mol/l)
- (3).3x Homogenat - als Leerwert
- (4).3x Homogenat + Pharmakon (Pharm.Konz.= 1×10^{-5} Mol/l)

Ausgehend von Bindungswerten an tierischen Geweben erwarteten wir - außer bei der Salicylsäure - eine Bindung in Höhe von 70 bis 80%. Ansatz (2) sollte zur Korrektur einer möglichen Adsorption der Pharmaka an die Filtermembran dienen und daher eine Pharmakonzentration enthalten, die dem freien Anteil im Gleichgewicht entspricht. Daher wurde für den Ansatz (2) gegenüber Ansatz (4) nur 1/5 der Pharmakonzentration ($1 \times 10^{-5} / 2 \times 10^{-6} = 5$) benutzt. Bei der Berechnung der Bindung wurde diese Verdünnung berücksichtigt und das Ergebnis entsprechend korrigiert.

Die an beiden Enden verknöteten Schläuche kamen in Siebeinsätze, die in entsprechende Zentrifugengläser gelegt wurden. Nach Verschluss der Gläser mit Parafilm wurden alle Proben bei ca. 200 g und 4 Grad C rund 7h zentrifugiert. (Zentrifuge= gekühlte Zentrifuge Fa. Stock in Marburg.)

2.4. Dialyse mit dem Dianorm-Gerät

Dazu diente ein Dianorm-Dialysegerät mit Dialysezellen aus V4A-Stahl, die dem Typ 071 originalgetreu nachgebaut waren. Als Dialysemembran wurden Diachema-Membranen (Durchmesser 63mm, Membrandicke 0.02mm, molekulare Ausschlussgrenze 5000 D) benutzt. Die gleichen Proben wie bei der Ultrafiltration wurden auch hierfür hergestellt, und gegen Phosphatpuffer (pH=7.0, isoton) über 24h bei 4 Grad C dialysiert.

2.5. Berechnung der Bindung

2.5.1. I. Ultrafiltration radioaktivmarkierter Pharmaka.

200 µl von jedem Ultrafiltrat wurden in je 15 ml Szintillationslösung auf Dioxentasis in dafür geeignete Szintillationsflaschen aufgefüllt. Neben der Ultrafiltration von Puffer und Puffer-Pharmakon Lösung wurden auch nicht der Ultrafiltration unterworfen Anteile dieser Lösungen gemessen, um damit störende Einflüsse der Filtration (Siebereffekt, bzw. eine Adsorption an die Filtermembran erfassen zu können). Die Messung der Radioaktivität jeder Probe erfolgte im Packard Szintillationszähler Tricarb. Mod 5255. Zur Berechnung der % Bindung einer Substanz, nicht der absolut gebundenen Menge, dient fol-

gende Formel:

$$\%B = 100 \left(1 - \frac{C_1 \cdot W}{C_2 \cdot V} \right)$$

wobei,

C_1 = Pharmakonzentration in der Wasserphase des Homogenats (=Konzentration im Ultrafiltrat, also Konzentration des frei vorliegenden Pharmakons).

C_2 = Konzentration des Pharmakons im Ansatz (2). s. Seite

w = Wassergehalt des Homogenats als Bruchteil von Null.

V = Verdünnungsfaktor s.S.

Weil bei den Konzentrationen, mit denen in den Versuchen gearbeitet wurde, die vom Gerät gezählten Impulse der Pharmakonzentration direkt proportional sind, darf man in der obigen Formel statt Konzentration die vom Gerät angegebenen "disintegrations per minute" (dpm) einsetzen. Diese müssen allerdings durch den jeweiligen Leerwert korrigiert werden. Die Ein-

dung wird daher nach der folgenden Gleichung berechnet:

$$\%B = 100 \left(1 - \frac{(\text{dpm Homog.} + \text{Pharm} - \text{dpm Homog.} + \text{Pu}) \cdot w}{(\text{dpm Puffer} + \text{Pharm} - \text{dpm Puffer}) \cdot V} \right)$$

2.5.2. Dialyse

Zur Bestimmung der Thiopentalbindung durch Dialyse wurde die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie, HPLC, verwendet.

Geräte: Pumpensystem Gynkotec 300B

Spektrophotometer: Gynkotec SP-4, R=0.02

Integrator: Shimadzu c-R 18 Chromatopak

Mobile Phase: Methanol-Wasser 55:45 mit 0.1% Citronensäure, pH=6.5 mit NaOH eingestellt.

Flow= 1.5ml/min

Stationäre Phase: Fertigsäule Hyperchrome ODS Hypersil (l=25cm). Partikeldurchmesser:5 Fa. Bioschoff Leonsberg.

Es wurden jeweils 20 µl aus der wäßrigen Phase jeder Dialysezelle direkt in die Pumpe des Systems eingespritzt. Die Berechnung der Bindung erfolgte nach der folgenden Gleichung:

$$\%B = 100 \left(1 - \frac{(F_{\text{Homog.} + \text{Thiop.}} - F_{\text{Homog.} + \text{Pu}}) \cdot w}{(F_{\text{Thiop.} + \text{Puffer}} - F_{\text{Puffer}}) \cdot V} \right)$$

F=Fläche unter der Konzentrationskurve am Integrator,

w=Wassergehalt des Homogenats, V=Verdünnungsfaktor.

3. ERGEBNISSE

Tabelle 3 zeigt die prozentuale Bindung von jeweils 4 Pharmaka an 5 menschliche Gewebe. Die Ergebnisse zeigen, daß die meisten Pharmaka bei einer Konzentration von 10^{-5} Mol/l zu 70% und höher an die Gewebe gebunden werden. Man kann dabei deutlich erkennen, daß eine bestimmte Substanz in ähnlicher Größenordnung an die 5 Organe gebunden wird. Phenytoin wird zum Beispiel an alle Organe viel, Salicylsäure an alle Organe wenig gebunden. Wenn man also die Bindungswerte unter den verschiedenen Organen vergleicht, ergibt sich eine sehr hohe Korrelation. Abb. 1 zeigt diese Tatsache.

Bei einigen Werten ist die Standardabweichung relativ groß (Tab.3), z.B. Salicylsäure an Lunge, Thiopental an Herzmuskel, Phenytoin an Lunge. Es handelt sich dabei immer um Werte die an Organen verschiedener Individuen ermittelt werden mußten. Das könnte darauf hinweisen, daß es eine interindividuelle Streuung der Werte gibt. Allerdings ist die jeweilige Versuchszahl zu gering um diese Annahme zu bestätigen. Eine Klärung dieser Frage war auch bei dieser Untersuchung nicht eingeplant.

TABELLE 3: Bindungsdaten der untersuchten Pharmaka an menschliche Gewebe

Angegeben sind die Bindungswerte in % sowie die dazugehörige Standardabweichung;

n= Anzahl der Versuche

m= Anzahl der untersuchten Individuen

Die Bindungswerte wurden an 50%-igen Gewebehomogenaten bei pH=7 und 4 Grad Celsius ermittelt.

	<u>GEHIRN</u>	<u>HERZMUSKEL</u>	<u>LEBER</u>	<u>NIERE</u>	<u>LUNGE</u>
PHENYTOIN	84.8+0.9 n=3 m=1	90.5+0.1 n=3 m=1	92.2+1.1 n=3 m=1	86.5+0.4 n=3 m=1	80.1+2.1 n=3 m=1
SALICYLSR.	29.7+1.1 n=3 m=1	31.8+4.2 n=4 m=2	47.4+3.0 n=4 m=3	33.8+1.5 n=3 m=2	32.0+3.4 n=3 m=2
THIOPENTAL	62.1+0.7 n=3 m=2	82.3+4.3 n=6 m=2	77.8+1.7 n=4 m=2	72.5+2.3 n=4 m=1	62.4+2.3 n=3 m=2
WARFARIN	68.2+1.7 n=3 m=1	84.7+1.3 n=3 m=1	87.5+1.1 n=3 m=1	85.1+0.7 n=3 m=1	86.9+1.1 n=3 m=2

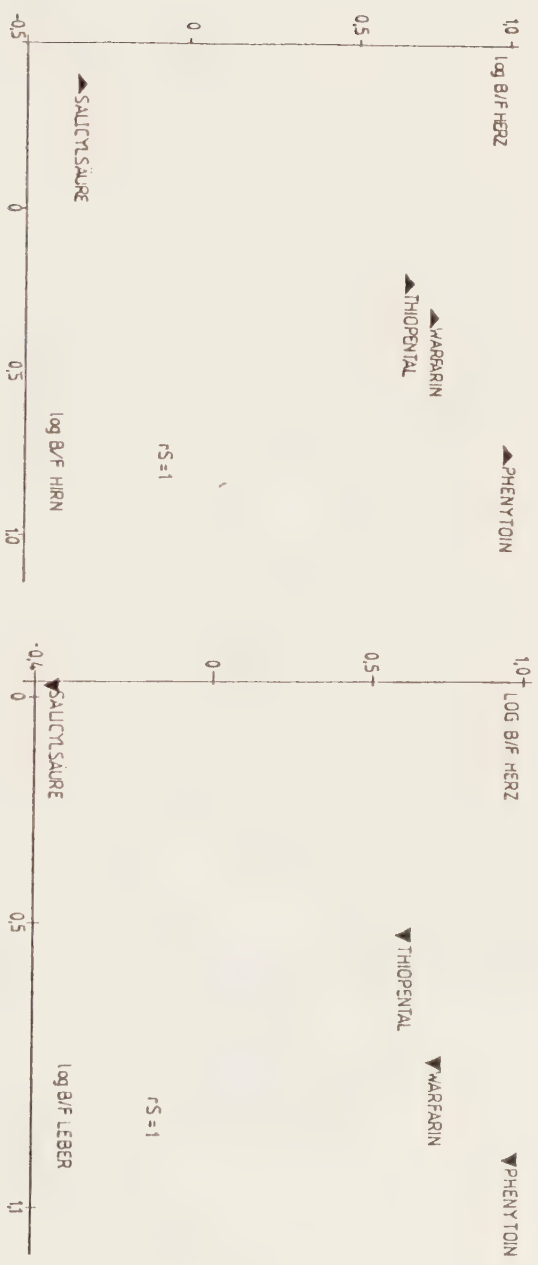


Abb. 1 Vergleich der Bindung von Phenytoin, Salicylsäure, Thiopental und Warfarin an verschiedenen menschlichen Organen.

Die Bindung ist jeweils als log des Quotienten aus gebundenem (B) und freiem (F) Anteil angegeben; der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (r_s) war ≥ 0.8 , d.h. die Korrelationen waren signifikant für $p < 0.05$.

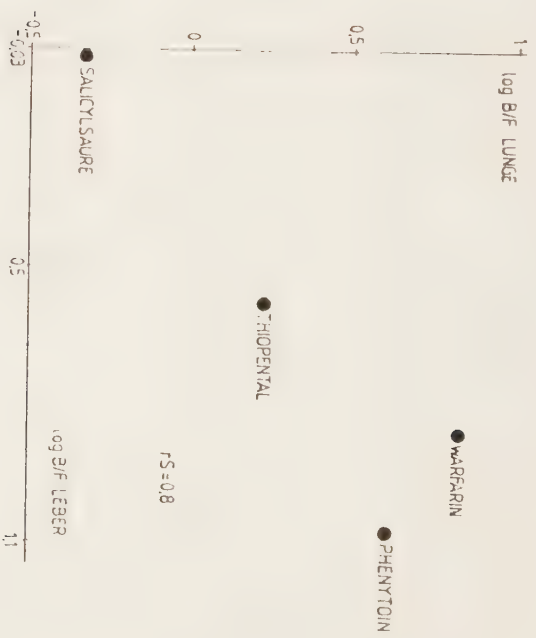
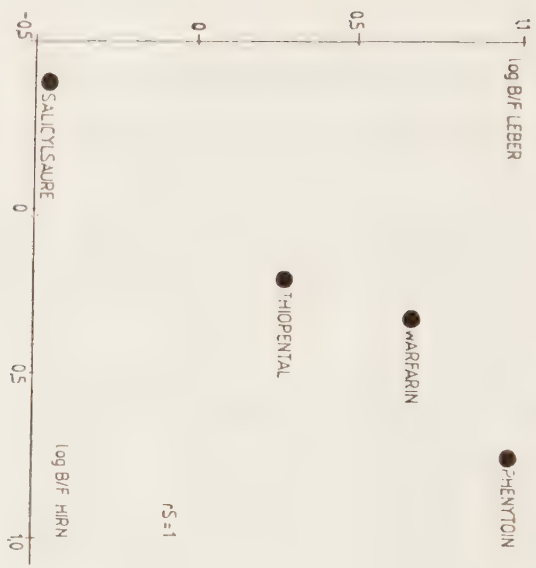


Abb. 1 (Fortsetzung).

4. DISKUSSION

4.1. Kritik der Methode

4.1.1. Ultrafiltration

Diese Methode hat sich beim Arbeiten mit dickflüssigen, proteinreichen Homogenaten seit Jahren bewährt. Bei allen Ansätzen wurden Kontrollproben von nicht Ultrafiltrierten Lösungen der Substanzen gemessen, um dadurch folgende Fehlermöglichkeiten bei der Ultrafiltration zu erfassen:

1. Adsorption an die Filtermembran
2. Siebeffekt
3. Ausfallen der Substanz in den Schläuchen.

Die unter 1-3 genannten Störfaktoren haben sich für Warfarin, Salicylsäure und Phenytoin, als unwichtig erwiesen. Bei der zunächst versuchten Ultrafiltration von Thiopental + Puffer-Ansätze wurde eine ungewöhnlich große Streuung der Bindungswerte beobachtet. Bei den Thiopental + Homogenat-Ansätzen trat diese Erscheinung nicht auf. Bei näherer Untersuchung ließ sich feststellen, daß das Thiopental in sehr starkem, aber dennoch wechselndem Maße an die Filtermembran gebunden wurde. Beim Versuch die Bindung von Thiopental durch Gleichgewichtsdialyse zu bestimmen ergaben sich diese Schwierigkeiten nicht. Deshalb wurde die Bindung von Thiopental - im Gegensatz zu den anderen Testsubstanzen - mit der Dialysemethode bestimmt.

Bei der Ultrafiltration von eiweißhaltigen Lösungen liegen die Fehler, die durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Proteine entstehen können (Behinderung der Membranpassage durch Proteinmoleküle, Wechselwirkungen mit ionisierten Substanzen), im Bereich des Meßfehlers und wurden deswegen nicht berücksichtigt.

4.1.2. Dialyse

Bei dieser Methode ist die Meßgenauigkeit höher als bei der Ultrafiltration. Da aber auch 50%ige homogenate noch sehr dickflüssig sind und dadurch den Dialysevorgang verlangsamen, wurde über 24h bei 4 Grad C dialysiert. Das ist wichtig für Organe mit rascher enzymatischen Metabolisierung, z.B. Leber oder Niere denn, durch den Abbau des Thiopentals kann eine höhere Bindung vorgetäuscht werden. Um mögliche Störfaktoren zu untersuchen, wurden auch Versuche mit 25%igem Homogenat über 12h bei 4 Grad C durchgeführt. Der aus diesen Versuchen erhaltene Bindungswert, auf ein 50% Homogenat umgerechnet, stimmt mit dem aus einem 50%igem Homogenat tatsächlich erhaltenen Bindungswert sehr gut überein.

In der Literatur wird über gute Übereinstimmung der Meßergebnisse von Ultrafiltration und Dialyse berichtet, (Garret et al 1972, Hinderling et al 1974). Man kann also die Bindungswerte für Thiopental mit den Werten für die anderen Substanzen ohne größere Bedenken vergleichen.

4.1.3. Einfluß der Temperatur auf die Bindungswerte

Ludden et al. (1976) haben berichtet, daß durch Kühlen der Homogenate auf 4 Grad C , metabolische Vorgänge blockiert werden. Aus diesem Grund wurden die Homogenate bei 4 Grad C ultrafiltriert oder dialysiert. Dabei erhebt sich allerdings die Frage, ob sich die Bindung bei der tiefen Temperatur gegenüber der Bindung bei Körpertemperatur verändert. Untersuchungen, die an Kaninchengewebe durchgeführt wurden (Schuhmann 1985) zeigten jedoch eine gute Übereinstimmung zwischen den bei 4 Grad C und bei Körpertemperatur bestimmten Bindungswerten.

Auch andere Untersuchungen (Anderson 1978, Dollery and Junod 1976) haben gezeigt, daß der Einfluß der Temperatur auf die Bindung nur gering ist.

4.2. Vergleich von Gewebefindung und Plasmabindung

Bei einer Konzentration von 10^{-5} Mol/l im Homogenat wurden die meisten Pharmaka zu 70% und höher an Gewebe gebunden. Die Bindungswerte der gleichen Substanzen an Plasma liegen bei 90% und höher. Obwohl sich die Bindungswerte von Gewebe und Plasma relativ wenig von einander unterscheiden, besteht keine signifikante Korrelation zwischen der Bindung der untersuchten Pharmaka an Gewebe und deren Bindung an Plasmaproteine:

Tab.4 zeigt einen Vergleich der Bindungswerte unter den verschiedenen Geweben, sowie zwischen den einzelnen Geweben und Plasma. Angegeben ist der jeweilige Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; (als signifikant wird eine Korrelation erst bei einem r_s -Wert von 0.8 und höher). Vergleicht man die Werte der Bindung an den verschiedenen Geweben untereinander, ergeben sich immer Korrelationskoeffiziente die signifikant von "Null" verschieden sind. Es besteht also eine sehr gute Korrelation der Bindungswerte an den verschiedenen Geweben. Dies ist am Beispiel des Vergleichs der Bindung Leber/Niere in Abb.2 dargestellt. Vergleicht man dagegen die Gewebefindung mit der Plasmapfindung, (Abb.2, Tab.4) so ergibt sich bei allen Geweben ein Rangkorrelationskoeffizient von "Null". Es besteht also für die 4 untersuchten Substanzen keine signifikante Korrelation zwischen Gewebe- und Plasmapfindung am Menschen. Wegen der geringen Anzahl der untersuchten Substanzen ist eine Verallgemeinerung der statistischen Aussagen für mehrere Pharmaka nur unter Vorbehalt zulässig.

Tabelle 4

Korrelation der Bindung zwischen Geweben untereinander
und zwischen Geweben und Plasma

Angegeben ist der Jeweilige Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (r_S).

NIERE	LEBER	LUNGE	HIRN	PLASMA	
1	1	0.8	1	0	HERZ
	1	0.8	1	0	NIERE
		0.8	1	0	LEBER
			0.8	0	LUNGE
				0	HIRN



Abb. 2

Vergleich zwischen Gewebefindung und Plasmafindung.

Anggegeben sind die Bindungswerte, ausgedrückt als $\log$ des Quotienten aus gebundenem und freiem Anteil (B/F), jeder Substanz an 2 Organe, bzw. an Plasma und Organ. Für die Bindung an Organe liegen die Punkte auf einer "gedachten" Gerade, der Rangkorrelationskoeffizient $r_s = 1.0$ deutet auf gute Übereinstimmung der Ergebnisse ($p < 0.05$). Beim Vergleich zwischen Plasma und Gewebe ergibt sich ein r_s -Wert von (0) bei einer "Wolkenform" der Punkte. Das deutet auf eine schlechte Korrelation zwischen Gewebe und Plasmafindung hin.

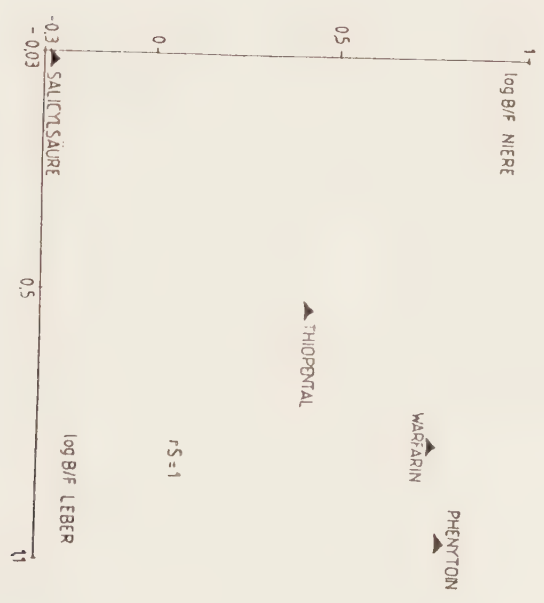
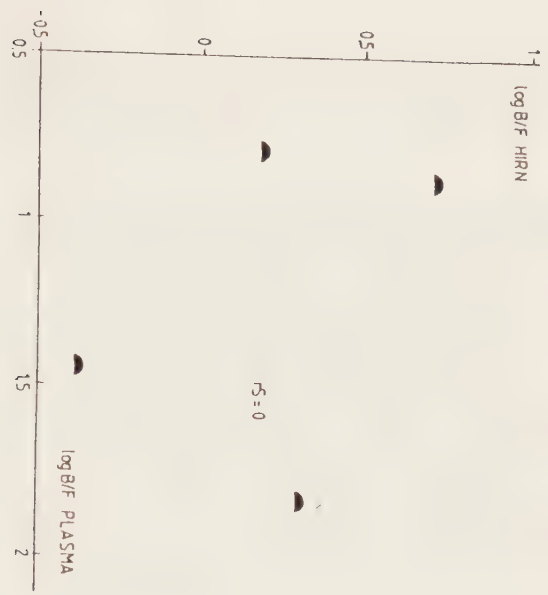


Abb. 2 (Fortsetzung)

4.3. Vergleich der Bindung beim Menschen mit der Bindung beim Kaninchen

Unsere Bindungswerte für das menschliche Gewebe korrelieren gut mit den Bindungswerten für Kaninchengewebe aus früheren Untersuchungen (Fichtl 1983): für das Kaninchen liegen Daten der Bindung an Leber, Niere, Lunge und Plasma vor. Beim Vergleich Mensch/Kaninchen ergibt sich für die Bindung an Leber und Lunge eine signifikante ($r_s=0.8$), für die Bindung an die Lunge allerdings ($r_s=0.4$) eine nicht signifikante Korrelation.

Die bei unseren Untersuchungen gefundene, mangelhafte Korrelation zwischen Gewebe- und Plasmabindung beim Menschen, findet sich beim Kaninchen ebenfalls (Fichtl 1983, Schuhmann 1985). Diese Befunde sprechen dafür daß sich sowohl beim Menschen, wie auch beim Kaninchen die Bindung an die verschiedenen Gewebe ähnlich verhält, sich aber von der Bindung an das Plasma unterscheidet.

4.4. Vergleich der Bindung an menschliche Organe mit der Bindung an menschlichen Skelettmuskel

Die Ergebnisse aus früheren Untersuchungen der Bindung von Pharmaka an Skelettmuskel, wurden mit den Bindungswerten an innere Organe und Hirngewebe verglichen. Dabei ergab sich beim Vergleich von Muskelbindung mit der Bindung an Hirn-, Leber-, Herzmuskel- und Nierengewebe, eine für alle Gewebe gleich hohe signifikante Korrelation ($r_s=0.8$). Nur bei der Lunge fand sich keine Signifikanz. Dieses abweichende Verhalten der Lunge ist eventuell mit dem hohen Blutanteil dieses Gewebes zu erklären.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Bindung von 4 anionischen Pharmaka an 5 menschliche Gewebearten wurde mittels Ultrafiltration und Gleichgewichtsdialyse bestimmt. Bei einer Konzentration von 10^{-5} Mol/l wurden die meisten Pharmaka zu 70% und höher gebunden.

Die gemessenen Werte wurden untereinander und mit Literaturangaben über Bindung an menschliches Muskelgewebe und Plasma verglichen. Eine sehr gute Korrelation ergibt sich wenn man die Bindung an die Gewebe untereinander vergleicht. Dagegen besteht zwischen Plasma- und Gewebebin-
dung keine signifikante Korrelation. Diese Daten sprechen dafür, daß die Bindung an die verschiedenen Gewebe sich ähnlich verhält, sich aber von der Bindung an Plasmaproteine unterscheidet.

Dies entspricht auch den Verhältnissen beim Kaninchen, bei dem in früheren Untersuchungen ein ähnlicher Unterschied zwischen Plasma und Gewebe gefunden wurde.

Beim Vergleich der Bindung an die menschlichen Gewebe mit der Bindung an die entsprechenden Gewebe des Kaninchens wurde eine gute Korrelation gefunden. Dies bedeutet, daß die artspezifische Unterschiede bei der Gewebebin-
dung gering sind.

6. LITERATURVERZEICHNIS

Anderson J.H. ,Anderson R.C., Iben L.S.

Hepatic uptake of propranolol

J. Pharmacol. Exp. Ther.206:172-180 (1978)

Dollery C.T., Junod A.F.

Concentration of (+)-Propranolol in isolated
perfused lungs of rats

Brit. J. Pharmacol. 57:67-71 (1976)

Fichtl B.

Untersuchungen zur Gewebefindung von Pharmaka

Habilitationschrift der Ludwig-Max.-Univ. München
München 1983.

Garrett E.R., Jackson A.J.

Pharmacokinetics of morphine and its
surrogates III: Morphine and morphine 3-
monoglucuronide pharmacokinetics in
the dog as a function of dose.

J. Pharm. Sci. 68:753-771 (1979)

Goodman und Gilman

Pharmacological Basis of Therapeutics

6th Ed. Macmillan, New York 1980.

Herzog R. (1983)

LSC-Liquid Scintillation Counting

Pharmazie in unserer Zeit, 12 Jahrg. 3, S.80-89

Hinderling P.H., Garrett E.R.

Pharmacokinetics of the antiarrhythmic
disopyramid in healthy humans

J. Pharmacokin. Biopharm. 4:199-230 (1976)

Kurz H. und Fichtl B. (1983)

Binding of Drugs to Tissues

Drug Metabolism Reviews, 14, S.467-510

Kurz H, Trunk H., Weitz B. (1977)

Evaluation of Methods to determine protein-binding of Drugs

Arzneimittelforschung/Drug Research 27 II S.1373-1380

Pfeifer S., Pfflegel P., Borchert H. (1984)

Grundlagen der Biopharmazie

VEB-Verlag, Volk und Gesundheit, Berlin 1984 S.80-90

Rauen H.

Biochem. Taschenbuch

Springer Verlag Berlin 1956.

Scholtan W.

Bestimmungsmethoden und Gesetzmäßig-
keiten der Serumproteinbindung von
Arzneimitteln

Drug Res. 28:1037-1047 (1978)

Schuhmann G.

Beziehung zwischen der Bindung von Pharmaka an Plasma und
Gewebe in vitro und ihrer Verteilung in vivo.

Inauguraldissertation der Ludwig-Max.-Univ. München
München 1985.

Lebenslauf

Name Touroutoglou Nikolaos

Geburtstag 8.2.59

Geburtsort Thessaloniki, Griechenland

Eltern Mutter: Touroutoglou Anastasia, Hausfrau,
früher Lehrerin
Vater: Touroutoglou Parthenios, gest.1974,
früher Kaufmann

Schulbildung 1965-1971 Volksschule in Thessaloniki
1971-1976 Gymnasium in Thessaloniki (Anatolia College von Thessaloniki)
1976 Hochschulreife im Anatolia College von Thessaloniki

Studium 1976-1978 Chemie/Premedical Program in
Indiana University at South Bend,
Indiana U.S.A.
1978 Annual Honors Award von Indiana Univ.
1978-1984 vorklinische und klinische Semester
an der Ludwig-Maximilians-Universität
München;
1980 Ärztliche Vorprüfung
1981 1. Abschnitt d.Arztl. Prüfung
1983 2. Abschnitt d.Arztl. Prüfung
1984 3. Abschnitt d.Arztl. Prüfung
1985 Approbation (Bayerisches
Staatsministerium des Inneren)

Weiterbildung April-Juni 1986: Kursus der Tropenmedizin und
Schiffserkrankungen für Ärzte an dem Bernhard-
Nocht Institut für Schiffs und Tropenerkrankun-
gen, Hamburg.

Juli 1986-Okt.1986 Wissenschaftlicher Assistent
an dem Walther-Straub Institut für Pharmakologie
und Toxikologie der Universität München.

Seit Nov.1986 Assistenzarzt in der Radiologischen
Klinik, Klinikum Großhadern, München.

